BEITRÄGE

ZUR

CHEMIE DER HEFE.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

Vorgelegt von

THEODOR SEDLMAYR,

ASSISTENT

AN DER KGL. TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZU MÜNCHEN.

Referent: **PROF. DR. CARL LINTNER**

Korreferent: **PROF. DR. ANDREAS LIPP.**

Tag der mündlichen Prüfung: 14. März 1903.

MÜNCHEN 1903.

Franz Humar, Lith. Kunstanstalt, Buch- u. Steindruckerei, G. m. b. H., München.

BEITRÄGE
ZUR
CHEMIE DER HEFE.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

ACAD. LUND. BIBL.

Vorgelegt von

THEODOR SEDLMAYR,

ASSISTENT

AN DER KGL. TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZU MÜNCHEN.

Referent: **PROF. DR. CARL LINTNER**

Korreferent: **PROF. DR. ANDREAS LIPP.**

Tag der mündlichen Prüfung: 14. März 1903.

MÜNCHEN 1903.

Franz Humar, Lith. Kunstanstalt, Buch- u. Steindruckerei, G. m. b. H., München.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555418_0096

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Nachstehende Untersuchung wurde im gärungschemischen Laboratorium der k. technischen Hochschule zu München ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. C. J. Lintner, auf dessen Anregung und unter dessen liebenswürdiger Leitung vorliegende Arbeit entstand, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Historischer Teil.

Die ersten Analysen der Hefe sind von Schlossberger ausgeführt. Die Hefe wurde durch Decantieren und Auswaschen von allen Verunreinigungen befreit und dieselbe dann analysiert. Schlossberger gibt den Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz an.

Ähnliche Angaben über die Zusammensetzung der Hefe existieren von Mitscherlich, Mulder, Wagner und Dumas.

Dass die von den verschiedenen Forschern gefundenen Zahlen differieren, darf uns nicht wundern, da sich ja die Zusammensetzung sogar ein und derselben Hefe fortwährend ändert.

Schlossberger machte aber auch schon einen Versuch, die verschiedenen Bestandteile der Hefe zu isolieren.

Er behandelte die Hefe mit schwacher Kalilauge, filtrierte und neutralisierte das Filtrat mit Säure: es fiel ein weisser flockiger Niederschlag aus, der die Zusammensetzung

C	55,5
H	7,5
N	13,9
S	—

und keine Asche hatte.

Für einen normalen Eiweisskörper erschien ihm der Gehalt an Stickstoff zu niedrig.

Dagegen fand Mulder einen Körper durch Extraction mit Essigsäure und Neutralisation mit kohlensaurem Ammon, der seiner Zusammensetzung nach dem Albumin nahe steht.

Er hatte die Zusammensetzung

C	53,3
H	7,0
N	16,0

Schlossberger stellte auch einen ziemlich wie Cellulose zusammengesetzten Körper aus der Hefe durch Behandlung mit Kalilauge und Erschöpfung mit Essigsäure dar.

Payen gibt für die Hefe schon folgende Zusammensetzung an:

N-Substanz	62,73
Fett	2,10
Cellulose	22.37
Mineralsubstanz	5,80

Ausserdem fanden Schützenberger und Béchamp auch schon einen Gummikörper in der Hefe.

Die Asche der Hefe wurde von Mitscherlich analysirt und sind die Resultate in den meisten Lehrbüchern angeführt.

Zu ähnlichen Resultaten wie Mitscherlich gelangte auch Bull bei der Analyse der Hefenasche.

Eingehender als die bisher angeführten Forscher beschäftigen sich Naegeli und Löw[1]) (1878) in ihrer Arbeit mit der Chemie der Hefe.

Der Inhalt derselben ist kurz folgender:

1. Die in Weingeist löslichen Bestandteile der Hefe. Als solche finden sie das c-Pepton Meissners, Bernsteinsäure, Glycerin, Leucin, Traubenzucker und ein in Alhohol lösliches Albuminat. Ausserdem Spuren eines Xanthinkörpers.
2. Die ätherlöslichen Bestandteile der Hefe sind nach ihrer Ansicht wol Cholesterin und fett, nicht aber Lecithin.
3. Die quantitativen Bestimmungen des Fettes müssen nach dem Zerstören der Zellhaut durch konzentrierte Salzsäure ausgeführt werden. Sie finden so einen höheren, fast dreifachen Gehalt an Fett, als bei direkter Extraktion.
4. Sie bestreiten die Anwesenheit eines Nucleins in der Hefe, wie es Hoppe-Seyler angab.
5. Sie isolieren einen Pflanzenschleim aus der Hefe, – wie er von Béchamp zuerst gefunden wurde, – den sie beschreiben und welchem sie die Formel

$$3\,(C_6\,H_{10}\,O_5) + 2\,H_2\,O$$

geben.

6. Sie erachten die Hefecellulose nicht nur von der Cellulose im gewöhlichen Sinne, sondern auch von der Spaltpilzcellulose für verschieden.

[1]) Sitzungsber. d. bayr. Akad. d. Wiss. 1878, S. 161.

7. Sie beschreiben die Produkte der Involution, und finden, dass Hefe bei langsamer Respiration und allmählichem Absterben an verdünnte 1 %ige Phosphorsäure abgegeben hatte: a-, b- und c-Pepton, Leucin, Guanin, Xanthin, Sarkin, Pilzschleim, ferner geringe Mengen Albumin, Kohlensäure, Alkohol und Traubenzucker.

Es sei nun noch kurz angedeutet, was sich in der neueren Literatur über die chemische Zusammensetzung der Hefe findet.

Der besseren Uebersichtlichkeit halber seien einzelne Bestandteile, wie Fett, Lecithin, Cholesterin, Glycogen, Gummikörper (Schleimstoffe) Cellulose und die Eiweisskörper der Hefe getrennt besprochen.

Das Fett der Hefe wurde schon von Payen und auch von späteren Forschern auf ca. 2% der Hefetrockensubstanz angegeben.

Naegeli und Löw erhielten nach ihrer Methode allerdings 5%, wobei sie aber die Fettsäuren des Lecithins unbewusst mit in Rechnung brachten.

Ihre Methode war, wie bereits erwähnt, darauf begründet, dass sie die Hefecellulose durch heisse, konzentrierte Salzsäure zerstörten, und die Masse mit Alkohol-Aether extrahierten. Der Verdampfungsrückstand vom Alkohol wurde dann mit Chloroform verdampft, und der Rückstand gewogen. Die Fettsäuren wurden dann auf Fett umgerechnet.

Neuerdings untersuchten auch Darexy und Gerard[1]) das Fett der Hefe, und fanden, dass dasselbe aus etwa gleichen Teilen Stearin und Palmitin bestehe, und dass neben dem Fett auch freie Fettsäure in der Hefe vorkomme.

Das Lecithin wurde in der Hefe zuerst von Hoppe-Seyler[2]) gefunden. Naegeli und Löw bestritten diese Angabe.[3])

Dass aber solches in der Hefe doch vorhanden sei, bewies Hoppe-Seyler später[4]), wenn auch nicht einwandfrei.

Wohl lieferte er aber den Beweis, dass sich in der Hefe ein in Aether löslicher Phosphor und Stickstoff enthaltender Körper

---

[1]) Journ. pharm. chim. 1897. 6. s. 5. 275. Chem. Ztg. 1897. No. 12. 90.
[2]) Med. Chem. Unters. v. Hoppe-Seyler Heft 4. S. 500.
[3]) Sitzungber. bayr. Acad. d. Wiss. 1878. 4. Mai.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 2. S. 427.

befindet und zwar nicht einmal in geringer Menge. Aus einer Portion Hefe, welche nach dem Extrahieren mit Alkohol und Aether 81 g wog, erhielt Hoppe-Seyler

1,819 g mehrmals in Aether gelöste Stoffe; und zwar davon 0,439 g Cholesterin und

0,2445 g Lecithin.

Hoppe-Seyler berechnete die Menge Lecithin aus dem Phosphorsäuregehalt der ätherlöslichen Substanz, wie dies allgemein üblich war. (Ueber die Natur des Hefelecithins macht Hoppe-Seyler keine Angaben.) Er fügt noch hinzu, dass „der Lecithingehalt in Wirklichkeit aber sicherlich viel grösser ist, da sich Lecithin beim Eindampfen zersetzt."

Ueber das Cholesterin der Hefe, welches auch zuerst Hoppe-Seyler in der Hefe fand, ohne jedoch Angaben über die Art und Eigenschaften desselben zu machen, sei folgendes erwähnt.

Es giebt verschiedene Cholesterine.

Nach Gerard[1]) lassen sich alle in Krytogamen vorkommenden Cholesterine in die Gruppe des von Tanret zuerst (im Mutterkorn) gefundenen Ergosterins einreihen. Das in der Hefe vorkommende Cholesterin ist aber verschieden vom Ergosterin und hat mit demselben blos Aehnlichkeit bezüglich des Drehungsvermögens und seiner leichten Veränderlichkeit.

Das Glycogen wurde von Errera[2]) in verschiedenen Pilzen und in der Hefe gefunden, nachdem es von Claude Bernard schon im Jahre 1855 in der Leber entdeckt war.

Vorerst wurde das Hefeglycogen mit dem Glycogen der Leber für nicht identisch gekalten, und sogar das Vorkommen desselben in der Hefe angezweifelt.[3]) Später wurde aber auf Grund genauer Untersuchungen von Clautriau[4]) wieder die Anschauung ausgesprochen, dass die Unterschiede zwischen tierischen und Hefeglycogen von den verschiedenen Verunreinigungen herrühren.

Auch eine quantitative Methode zur Glycogenbestimmung arbeitete Clautriau aus und findet den Glycogengehalt seiner Hefe zu 31%.

[1]) Compt. rend. 114. 121. 126. Centralblatt 92. 95. 98.
[2]) Compt. rend. C 1. 253.
[3]) Salkowsky, Ber. d. chem. Ges. 94. 3325.
[4]) Belg. Akad. d. Wiss. Sitzg. 6. April 1895. Chem. Ztg. 95. No. 39. 906.

Dies stimmt mit Laurents[1]) Angaben überein, welcher nach einem anderen Verfahren bis zu 32% gefunden hatte.

Neuerdings untersuchten A. Harden und W. J. Joung[2]) auch das Hefeglycogen und verschiedene tierische Glycogene.

Sie fanden, dass zwischen tierischen Glycogenen (z. B. aus Kaninchen und Auster) ein grösserer Unterschied ist, wie zwischen Hefeglycogen und solchen tierischen Ursprunges.

Gummiartige Substanzen wurden, wie bereits schon erwähnt, von Béchamp, sowie von Naegeli und Löw in der Hefe gefunden. Auch Schützenberger beschrieb bereits einen Gummikörper, der bei der Hydrolyse einen reduzierenden Zucker gab.

Man nahm an, dass in verschiedenen Hefen auch verschiedene solche Kohlehydrate anwesend seien, bis Hessenland[3]) aus der Hefe verschiedene Gummiarten darstellte. Aus dem wässrigen Extrakt der Hefe fällte er unter anderem mit Alkohol einen Körper von der Formel

$$C_6 H_{10} O_5$$

welchen er der Hauptsache nach für Mannan hält.

Er fand an Gummisubstanzen 6 · 7% der Hefetrockensubstanz.

Denselben Körper fand auch Salkowsky[4]) in der Hefe und er beweisst die Unrichtigkeit der Naegeli- und Löw'schen Ansicht, dass deren Hefengummi aus der Zellwand umgewandelt sei.

Salkowsky fand auch 6.9%. — Hessenland bestimmte auch die Menge Pentosane in der Hefe, und zwar zu 2—3% der Hefetrockensubstanz.

Auch Liebermann und Bittó konstatieren den gummiähnlichen Körper.

Mit Salkowsky[5]) nehmen wir in der Hefe zwei verschiedene Cellulosen an, nämlich Achroocellulose, die durch Jodlösung nicht verändert wird und Erythrocellulose, welche durch Jod-Jodkaliumlösung kräftig braun gefärbt wird.

---

1) Recherches physiolog. sur le levure. Bruxelles 1890.
2) Journ. Chem. Soc. 1892. 81. 1224.
3) Ber. d. chem. Ges. 1894. S. 497.
4) Stzg. d. naturw. Klasse. ung. Akad. d. Wiss. 20. Febr. 1894.
5) Berichte d. chem. Ges. 94. No. 19. 3325.

Auch Liebermann und Bittó stellten Hefecellulose dar, und bewiesen, dass unter geeigneten Verhältnissen die Hefecellulose auch dieselben Reaktionen gibt, als wie die pflanzliche Cellulose.

Die Eiweisskörper der Hefe sind nach Kossel[1]) zum grossen Teil nicht in freiem Zustande in der Hefe, sondern an eine andere Gruppe gebunden.

Diese Gruppe nennt Kossel prosthetische Gruppe. Verbindungen einer solchen prosthetischen Gruppe mit einem Eiweisskomplex sind die Nucleine. Diese wurden zuerst von Hoppe-Seyler[2]) in der Hefe gefunden. Naegeli und Löw (l. c.) zweifelten aber auch diesen Befund Hoppe-Seylers an.

In grösserer Menge stellte dann Kossel aus der Hefe Nuclein dar.

Zu diesem Zwecke wurde die Hefe mit verdünnter Natronlauge extrahiert.

Es wurde dann möglichst rasch in verdünnte Salzsäure filtrirt, wobei die Nucleine ausgeschieden werden. In den Nucleinen ist die prosthetische Gruppe eine Nucleinsäure, in unserem Falle also die Hefenucleinsäure.

Sie kann aus dem Nuclein durch Abspaltung von Eiweiss mittelst verdünnter Alkalien dargestellt werden.

Die Nucleinsäure kann dann durch weitere Behandlung mit verdünnten Alkalien in Kohlehydrate und Plasminsäure zerlegt werden.

Letztere zerfällt dann durch Einwirkung verdünnter Säuren in Nucleinblasen, Phosphorsäure und eine nicht näher bekannte, stickstoffhaltige Substanz.

Stutzer[3]) stellte fest, dass von 8,65% Stickstoff in der Hefe 2,26% auf Nucleine entfallen.

Die Kohlehydrate aus der Hefenucleinsäure sind wahrscheinlich Glycose und Pentose.

Kossel und Neumann stellten aber auch fest, dass in manchen Nucleinen zweierlei — reduzierende und nicht reduzierende Kohlehydrate vorhanden seien.

[1]) Kossel, Ber. d. chem. Ges. 1901. S. 3214. Ferner die früheren Arbeiten von Kossel und Schülern.

[2]) Med. chem. Unt. Hoppe-Seyler, Heft 4. S. 500.

[3]) Nach Lafar, Techn. Mykologie II. Teil.

Was die übrigen Eiweissbestandteile der Hefe betrifft, fand ich darüber fast gar keine Angaben, welcher Art dieselben sind.

Bokorny[1]) findet in der mit Formalin abgetöteten Hefe 2,5% Pepton und in getrockneter Hefe 3% Albumin, welches aber beim Wässern, oder gar in N-freier Nährlösung rasch in Pepton übergeht.

Dieser Umstand erinnert an die Peptonisierungsvorgänge im Tierreich.

Der Sitz der Nucleine ist im Zellkern. Die übrigen Eiweisskörper sitzen im Cytoplasma, zum Teil aber auch bilden sie bei verschiedenen Heferassen ein Netzwerk um die Zellen herum, wie Will[2]) nachwies.

Gerade diese letzteren (die ausserhalb der Zelle) sollen sich ja auch an der Schaumbildung (Bier) beteiligen.

Ausserdem sind auch noch die Enzyme der Hefe aller Wahrscheinlichkeit nach komplizierte Eiweisskörper. Hierher gehören ausser der Zymase das Invertin, ein proteolytisches Enzym, Oxydase, Maltase, ein Cellulose spaltendes, ein Glycogen spaltendes, ein Nucleoalbumine coagulierendes Enzym.

Alle diese Enzyme sind auch im Hefepressafte vorhanden. (Wroblewsky.[3])

Ausserdem sind in demselben, soviel bis jetzt bekannt ist:

Albumine, Globuline, Mucine, Nucleoalbumine, Proteosen, Peptone, Mannosan, Glycogen, eine krystallinische Phosphorsäureverbindung, Xanthinkörper, Tyrosin, Leucin, Glutaminsäure, ein reduzierender Körper, Lecithin, Glycerin, Alkohol, Fette, Ameisensäure und eine flüchtige, ölige Substanz. –

Zum Schluss noch Einiges über die Selbstverdauung (Selbstgärung) der Hefe.

Schon Berthelot[4]) beobachtete die Selbstgärung der Hefe. Später wurde dieselbe ja bestritten. (Chudiakow.) Nun dürfte die Selbstgärung der Hefe wohl eine unbestrittene Thatsache sein,

[1]) Chem. Centralbl. 1901. Bd. 1. S. 56.
[2]) Will, Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 97.
[3]) Journ. prakt. Chem. 172. 1901. Seite 1.
[4]) Hardeu und Rowland. Journ. Chem. Soc. 79. 1227. Z. f. ges. Brauw. 1902. 297.

ebenso der Umstand, dass das Material der Selbstgärung das Glycogen ist.

Die Selbstgärung tritt sowohl beim Stehenlassen der Hefe ohne Zusätze ein, bei höherer Temperatur rascher, als auch bei Zusatz mancher Salze, während andere, z. B. Chloride — die Selbstgärung verhindern.[1])

Bei der Gärung tritt aus der Hefe mehr Stickstoff aus, als bei einfacher Dialyse mit Wasser. Und zwar ist ersterer meist Peptonstickstoff, während in das destillierte Wasser mehr Amide und weniger Peptone austreten. Gerinnbare Eiweisskörper treten keine aus, Albumosen nur Spuren.[2])

Man muss annehmen, dass alle hier besprochenen Bestandteile der Hefe im Plasma nicht im freien Zustande, sondern als lose Verbindungen vorhanden sind.

Bei jeglichem Eingriff oder Einwirkung auf die Hefezelle, sowie auch beim freiwilligen Absterben derselben treten mehr oder weniger weitgehende Zersetzungen ein und kann sich die Chemie also nur mit diesen Zersetzungsprodukten befassen.

Die folgende Arbeit beschäftigt sich lediglich mit den Bestandteilen der Hefe, die durch Einwirkung von Alkohol auf dieselbe gewonnen werden.

Die Hefe wird hierbei rasch getötet, und treten weitgehende Zersetzungen jedenfalls nicht auf.

---

[1]) Lintner, Zeitschr. f. Bakteriologie und Parasitenkunde 99. II. Abt. Bd. V. S. 793.

[2]) Wahl und Nilson, Zeitschr. f. ges. Brauw. 1902. S. 625.

Experimenteller Teil.

Das zur Extraktion gelangende Material war Kernhefe aus einem Brauereibetrieb. Die Hefe wurde immer zu einem Zeitpunkte der Zeugwanne entnommen, wenn sie sich recht fest abgesetzt hatte. Nun wnrde sie in viel kaltem Wasser aufgeschlämmt, zur Befreiung von Verunreinigungen (Hopfenharz) durch ein ganz feines Sieb getrieben, mehrmals absitzen gelassen, das Wasser abgegossen und mit frischem Wasser gewaschen.

Die auf diese Weise gereinigte Hefe wurde nun auf einer grossen Nutsche abgenutscht. Man erhielt auf diese Weise Kuchen vom Wassergehalte 75 – 80 %.

Um gute Ausbeuten an Extraktivstoffen zu erhalten, und Selbstzersetzung zu vermeiden, soll die ganze Operation möglichst rasch geschehen und die Hefe sofort nach dem Waschen und Abnutschen mit Alkohol übergossen werden.

Beim längeren Stehen treten Zersetzungen im plasmatischen Zellinhalte ein und man erhält infolgedessen geringere Ausbeuten an bestimmten Körpern.

Je 1 kg der abgenutschten Hefe wurde mit 1 l 96 prozentigem Alkohol übergossen und in einem Kolben gut durchgeschüttelt.

Nach etwa 6 Stunden kann man durch Filtration von der Hefe einen gelben, grün fluoreszierenden Alkoholauszug trennen; die Hefe kommt wieder in den Kolben, und werden die nun folgenden Extraktionen mit ca. 80 prozentigem Alkohol in der Hitze (in einem Wasserbade von ca. 70° C. stehend) vorgenommen.

Die Erfahrung lehrte, dass reiner hochprozentiger Alkohol nur geringe Mengen aus der Hefe zu lösen im Stande ist. –

Die warmen Extrakte setzen nun beim Erkalten einen flockigen weissen Körper in ziemlich beträchtlicher Menge ab. Derselbe besteht, wie spätere Untersuchungen ergaben, der Hauptsache nach aus Lecithin, verunreinigt durch verschiedene andere Substanzen.

Es werden nun kalte und heisse Auszüge ohne Rücksicht auf das Ausgeschiedene vereinigt und zwecks weiterer Verarbeitung eingedampft.

Um Zersetzungen zu vermeiden, muss das Verdampfen im Vakuum geschehen, und zwar bedient man sich hierbei zweckmässig eines kontinierlich arbeitenden Apparates.

Hat der Extrakt die gewünschte Konzentration erhalten, dann wird der Apparat entleert. Es wird so weit eingedampft, bis sich in der Flüssigkeit grobe Flocken von Lecithin ausscheiden, was eintritt, wenn die Flüssigkeit auf ca. $^1/_3$ ihres ursprünglichen Volums eingedampft ist. Der abdestillierte Alkohol wird wieder verwendet.

Bei gutem Funktionieren der Luftpumpe wird man das Schäumen gut vermeiden können, insbesonders, wenn das Wasserbad nicht zu heiss wird, also die Destillation langsam von statten geht.

Dampft man einen alkoholischen Hefeextrakt auf dem Wasserbade unter mehrmaligem Wasserzusatz ein, so scheiden sich in der wässerigen Flüssigkeit seidenglänzende Nadeln von Fettsäuren ab. Dieselben dürften der Hauptsache nach von zersetztem Lecithin herrühren.

Diese eingedickten Extrakte werden nun in einen grossen Messzylinder oder Schüttelkolben gebracht und mit Aether ausgeschüttelt.

Sollte hierbei die untere (wässerige) Schicht nicht klar werden, so wird etwas Alkohol zugesetzt.

Es wird so lange ausgeschüttelt, bis der Aether nichts mehr aufnimmt.

Sowohl der Aether, als die wässerige Schicht werden nun für sich eingedampft und wir erhalten hierdurch zwei Substanzen:

1. den Rückstand vom Aetherextrakt, das Rohlecithin,
2. den Rückstand aus der wässerigen Schichte, welcher aus einem peptonartigen Körper, ferner einem Kohlehydrat und aus Salzen besteht. Derselbe soll der Einfachheit halber als peptonoïde Substanz bezeichnet werden.

Das rohe Lecithin stellt eine gelbbraune Masse dar, von honig- oder syrup-artiger Konsistenz.

Der Geruch ist nicht unangenehm, der Geschmack ein schwacher, an Hefe erinnernder.

Auf dem Platinblech verbrennt es mit leuchtender Flamme, einen ganz eigenen Geruch verbreitend, ähnlich wie brennendes eiweisshaltiges Fett. - Zum Schluss ist eine weisse Flamme deutlich sichtbar und gibt auch die resultierende Asche deutliche Phosphorsäurereaktionen.

Es ist ziemlich leicht löslich in Aether, Chloroform und Benzol, jedoch nicht ganz klar. In 85 prozentigem Alkohol löst es sich ganz klar.

Aus der Lösung in Chloroform oder Benzol fällt ein Teil mit Aceton aus. Ebenso bekommt man mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung in alkoholischer Lösung einen starken weissen Niederschlag.

Die peptonoïde Substanz ist ebenfalls gelbbraun, spielend löslich in Wasser und schmeckt nach Brotrinde und Braten.

Die Lösung riecht und schmeckt fast wie Bouillon und dürfte dieser Körper den Hauptbestandteil der Hefenextrakte, wie sie als Fleischextrakt-Surrogate in den Handel kommen, bilden und ihnen den angenehmen Geschmack verleihen.

Verarbeitung des Rohlecithins.

Ehe die Versuche über die Darstellung von Lecithin mitgeteilt werden, mögen hier einige allgemeine Bemerkungen über diese interessante und physiologisch wichtige Substanz Platz finden.

Das Lecithin – oder richtiger die Lecithine – ein im Pflanzen- und Tierreiche sehr verbreiteter Körper, wurde zuerst von Hoppe-Seyler aus Eidotter rein dargestellt.

Was die Konstitution der Lecithine betrifft, können sie aufgefasst werden als:

1. Ester von Fettsäuren und Phosphorsäure mit Glycerin. Die Phosphorsäure ist dann ihrerseits noch mit einer Base z. B. Cholin verbunden. Z. B.:

$CH_2 \cdot O \cdot$ Radical einer Fettsäure

$CH_2 \cdot O \cdot$ Radical einer Fettsäure

$$CH_2 \cdot O \cdot P \begin{cases} OH \cdot \\ O \cdot \text{organische Base} \\ O \end{cases}$$

2. Thudichum nimmt für die Konstitution des Lecithins die eines Phosphatides an. Z. B.:

$$O = P \begin{cases} -O - \text{Fettsäure} \\ -O - \text{Fettsäure} \\ -O - \text{Glycerin} \end{cases}$$

und ist seiner Ansicht nach das Cholin in unbekannter Weise, jedenfalls aber als Anhydrid, und wahrscheinlich in eine Seitenkette eingefügt.

Was die Darstellung der Lecithine betrifft, so stellten sie Hoppe-Seyler aus dem Eidotter und Diaconow aus dem Gehirn nach folgendem Verfahren dar:

Es wurde das Material (Gehirn oder Eidotter) mit Alkohol bei 40° extrahiert, der Auszug auf — 10° C. abgekühlt, wobei sich das Lecithin ausscheidet.

Die Reinigung geschah dann durch Fällen mit Aceton aus der Lösung in Chloroform (nach Altmann) oder durch Umkrystallisieren. Schliesslich auch durch Fällen mit Platinchlorid und Zersetzen des Platinsalzes.

Auch Lippmanns Darstellungsweise aus notreifen Rüben weicht von dieser Methode wenig ab.

Dagegen beschrieb Peter Bergell[1]) in neuerer Zeit eine Darstellungsweise des Lecithins aus Eidotter. Dieselbe beruht darauf, dass das Lecithin in alkoholischer Lösung durch eine alkoholische Lösung von Chlorcadmium gefällt wird. Der getrocknete und mit Aether ausgewaschene Chlorcadmium-Niederschlag wird mit Ammoncarbonat zersetzt, da mit Schwefelwasserstoff die Zersetzung zu weit gehen könnte. Dieselbe Methode wandte Thudichum zur Darstellung des Lecithins aus Gehirn und zur Trennung des Lecithins vom Myelin und verwandten Substanzen an. Nur zersetzte er mit Schwefelwasserstoff, wodurch er das salzsaure Salz erhielt.

Was nun den Nachweis und die quantitative Bestimmung des Lecithins betrifft, so geschieht derselbe gewöhnlich nach Hoppe-Seyler in der Weise, dass man die betreffenden Substanzen mit Aether extrahierte, den Aether verdunstet und den Rückstand mit alkoholischer Kalilauge kocht. Nach dem Ver-

[1]) Berichte d. chem. Ges. XXXIII. 2. 2584.

dampfen des Alkohols nimmt man mit Wasser auf und schüttelt, um das Gholesterin zu entfernen, mit Aether. Die zurückbleibende Seifenlösung enthält die Glycerinphosphorsäure. Sie wird mit Salzsäure zersetzt, durch Aether von den fetten Säuren befreit, eingedampft, mit Salpetersäure und Soda geschmolzen und in der Schmelze die Phosphorsäure auf bekannte Weise ermittelt.

Schulze und Steiger[1]) finden, dass man so zu niedrige Zahlen erhält und kochen infolgedessen nach der Behandlung mit Aether auch noch mit Alkohol aus.

Natürlich erhält man auf diese Weise nicht nur die Lecithinphosphorsäure, sondern alle phosphorhaltigen ätherlöslichen Verbindungen mit. Und solche gibt es verschiedene z. B. das von Drechsel gefundene Jekorin, ferner verschiedene von Thudichum beschriebene Myeline, Phosphatide etc.

Richtiger wäre es also z. B. aus der Menge Cholin das Lecithin quantitativ zu bestimmen, wie z. B. Kjeldahl[2]) im Bier das Cholin bestimmte. Aber auch diese Bestimmungsmethode hat entschieden Nachteile und zwar:

1. Das Lecithin ist nicht so leicht vollkommen zersetzlich, wie man annimmt. Infolgedessen muss man
2. Starke Zersetzungsmittel anwenden, durch welche jedenfalls auch ein Teil des Cholins zersetzt wird.

Was nun die Darstellungsweise des Lecithins aus Hefe betrifft, so wurden die verschiedensten Versuche gemacht.

1. Man versuchte die Alkoholauszüge mit alkoholischem Cadmiumchlorid zu fällen und aus dem Niederschlag durch Zersetzung das Lecithin zu gewinnen.
2. Es wurde versucht, durch Abkühlen des alkoholischen Auszuges auf $-10°$ $-12°$ C das Lecithin herauszubekommen, und es von den hierbei mitfallenden Substanzen durch Aetherextraktion zu trennen.
3. Man schüttelte die eingedampften alkoholischen Extrakte (nachdem der Alkohol natürlich schon zum grössten Teil weg war) mit Aether und gewann aus dem Aether das Lecithin.

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie. 13. 365.
[2]) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 91. S. 411.

Bei 1. waren die Ausbeuten schlechte. Bei der Behandlung mit Ammoncarbonat war wohl die Zersetzung keine vollkommene, bei der Zersetzung mit Schwefelwasserstoff ging sie offenbar zu weit. Ausserdem erhält man ja auf diese Weise das salzsaure Salz. Auch scheint die Fällung mit Cadmiumchlorid keine vollkommene zu sein.

Die Methode 2. gab auch keine befriedigenden Resultate. Wohl war es verlockend den beim Abkühlen sich ausscheidenden Körper für sich zu verarbeiten. Er lässt sich aber schon nicht leicht filtrieren, auf einen Tonteller gepresst ist er schmierig und nimmt eine bräunlich dunkle Farbe an.

Mit Aether kann man daraus einen Körper extrahieren, der die Eigenschaften von Lecithin besitzt. Die Manipulation erfordert aber viel Aether und ich kann die Beobachtung Hoppe-Seylers nur bestätigen, dass das sich absetzende Lecithin Eiweisskörper mitreisst, von denen es nur schwierig zu trennen ist. Auch können hier wohl Verbindungen von Lecithin mit Eiweisskörpern in Frage kommen.

Ich suchte daher noch nach einem anderen Verfahren, und fand schliesslich folgenden Weg, nach welchem man das Lecithin aus Hefe ohne allzu grosse Schwierigkeiten und in ziemlicher Menge gewinnen kann: Die eingedampften, vereinigten Auszüge werden, wie schon erwähnt, mit Aether so lange ausgeschüttelt, bis der Aether nichts mehr aufnimmt.

Das Ausschütteln erfolgt zweckmässig in einem Mischcylinder. Falls die wässrige Schicht nicht klar werden sollte, so ist etwas Alkohol zuzusetzen.

Die Scheidung erfolgt langsam aber scharf, und wird die Aetherschichte abgehebert.

Von den vereinigten Aetherextracten wird der Aether abdestilliert und zum Schluss der noch anwesende Alkohol auf dem Wasserbade verjagt.

Der Rückstand, das Rohlecithin wird nun in Aether aufgenommen, wobei sich ein geringer Teil nicht löst. Man filtriert nun vom Ungelösten ab und trägt in das Filtrat, um es möglichst wasserfrei zu erhalten, geschmolzenes und gepulvertes Natriumsulfat ein. So lässt man nun einige Stunden stehen. Nach dem

Abfiltrieren vom Natriumsulfat kann man die Entwässerung noch in derselben Weise wiederholen. Ganz klar wird aber die Lösung durch die Entwässerung und Filtration nicht. — Das Verdampfen des Aethers muss mit Vorsicht geschehen, da die Substanz zu leicht Wasser anzieht. Ich bediente mich hierbei eines Apparates, bei dem nur durch Chlorcalcium gut vorgetrocknete Luft mit der verdampfenden Flüssigkeit in Berührung kam, wodurch eine Wasseraufnahme ausgeschlossen war.

Das nun erhaltene Produkt ist aber noch nicht ganz rein. Es besitzt wohl schon eine wachsartige Konsistenz, ist aber manchmal noch sehr dunkel gefärbt, manchmal auch noch etwas schmierig.

Zur Untersuchung der erhaltenen Produkte wurde die Verseifung herangezogen.

1 — 2 g Substanz wurden mit 20 ccm alkoholischer $\frac{n}{2}$ Kalilauge versetzt, $^3/_4$ Stunden gekocht und dann mit auf die Kalilage eingestellter Salzsäure zurücktitriert.

Indicator: Penolphtaleïn.

Die zur Verseifung verbrauchten mg KOH auf 1 g Substanz bezogen — ist die Verseifungszahl.

Selbstverständlich muss die Verseifungszahl immer die gleiche sein, und zwar für Dipalmitin-Lecithin 224 für das wasserfreie Produkt.

Die Berechnung dieser Zahl erfolgte unter der Annahme, dass durch das Kalihydrat

1. die zwei Fettsäureradicale
2. die Phosphorsäure abgespalten werden.

Zwei Wasserstoffatome der Phosphorsäure müssen durch Alkali ersetzt sein, dass sie alkalisch wirkt.

Das eine wird durch Cholin neutralisiert, das andere durch das Kalihydrat. Ebenso werden die zwei fettsäureradikale durch das Kalihydrat neutralisiert.

Ein Molekül Lecithin braucht also drei Moleküle KOH zur Verseifung.

Dass die Verseifungszahl aber selbst bei reinen Präparaten zu hoch gefunden wurde hat seinen Grund wohl darin, dass beim Kochen mit der Kalilauge ein Teil des Cholins zersetzt wird und nicht mehr neutralisierend wirkt.

Man kann auch thatsächlich beim Kochen mit der Kalilauge einen Trimethylamingeruch wahrnehmen.

Die Verseifungszahl betrug bei drei verschiedenen Präparaten:

I	II	III
171	199	189

(verbraucht wurden zur Verseifung

I	II	III
12.65 ccm	8.7 ccm	7.0 ccm

einer $\frac{n}{2}$ KOH welche 27 mg KOH im ccm enthielt, wobei die Menge der angewandten Substanz

2,0 g	1,18 g	1,0 g war)

welche Zahlen sämmtlich zu niedrig sind.

Diese Präparate sind also noch stark verunreinigt, und musste man, um sie von den Beimengungen zu befreien, einen anderen Weg einschlagen.

Es wurde die Methode von Altmann, das Lecithin in Chloroform zu lösen und mit Aceton zu fällen versucht.

Das Lecithin fällt hierbei in weissen Flocken, die man absitzen lässt, filtriert und mit Aceton auswäscht. Es ist ein ziemlicher Ueberschuss von Aceton notwendig. Man bringt nun die Masse rasch auf einem Uhrglas in einen guten Schwefelsäure-Vacuumexsiccator und lässt sie eintrocknen.

Man erhält so eine zunächst noch schmierige, später festere, bräunliche Masse, etwa von der Consistenz des Bienenwachses.

Mit der Zeit lässt sie sich sogar pulvern und sich im gepulverten Zustande im Exsiccator aufbewahren. An der Luft wird sie aber sofort weich und schmierig und ist eminent hygroscopisch.

Um festzustellen, was für Fettsäuren in diesem gereinigten Lecithinpräparat noch vorhanden sind, wurde eine Portion desselben in alkoholischer Lösung verseift, die Lösung durch Eindampfen auf $^1/_3$ Volum vom Alkohol befreit und nun die Fettsäuren mit Schwefelsäure herausgefällt, abfiltriert und mehrmals umkrystallisiert.

Die Säurezahl, welche mit $^1/_{10}$ n KOH bestimmt wurde, ergab, dass es sich um eine Säure von 16 C-Atomen handeln müsse

(0,196 g der Säure verbrauchten 7,7 ccm einer $\frac{n}{10}$ KOH.

7,7 × 5,6 mg = 43,12 mg

4312:196 = 220

gefundene Säurezahl 220

theoretische „ 219

(für eine Säure mit 16 C-Atomen.)

Der Schmelzpunkt der mehrmals umkrystallisierten Säure war 61° C.

Die gefundene Säure ist also Palmitinsäure, und konnte man auch niemals eine andere Säure, insbesondere keine Oelsäure finden.

Im Filtrat von den Fettsäuren konnte ich den zweiten variablen Bestandteil des Lecithins, die organische Basis als Cholin (mittelst Jod als Cholinperjodid) identifizieren.

Wir haben somit ein Dipalmitin-cholin-lecithin.

Die Analysen verschiedener Präparate ergaben folgende Zahlen.

I. Zuerst musste festgestellt werden, ob es sich um ein wasserhaltiges oder wasserfreies Produkt handelt.

Hoppe-Seyler gab nämlich seinem Lecithin 3 Mol. Krystallwasser.

Das eine Präparat wurde daher im Trockenschrank bei 105° C. vier Stunden lang getrocknet, und es ergab sich hierbei ein Gewichtsverlust von 6,30%. Theoretisch entsprechen (3 H_2O) 6,01%. Somit dürfte ein geringer Teil durch das Erhitzen auch zersetzt worden sein.

Es scheint also, dass das so gewonnene Lecithin thatsächlich 3 H_2O hat.

Auch über Phosphorsäureanhydrid im Vacuum gibt das Produkt in einigen Tagen alles Krystallwasser ab.

Es verliert dann im Trockenschrank während 4 Stunden nur mehr ca. 1% seines Gewichtes, welcher Gewichtsverlust aber auch von einer Zersetzung herrühren kann.

II. Die Verseifungszahl der Präparate betrug

I	II
263	256

(Von der KOH, die 28 mg KOH im ccm enthielt, wurden verbraucht 6,2 ccm 8,5 ccm
während die angewandte Substanz
0,661 g 0,93 g betrug.)

Theoretisch wäre sie beim wasserfreien Lecithin 224 – 298 und beim wasserhaltigen 209 – 278, je nachdem gar kein oder alles Lecithin zersetzt wurde. Da die gefundenen Zahlen in der Mitte liegen, dürfte eine teilweise Zersetzung eingetreten sein.

III. Der Stickstoffgehalt wurde in verschiedenen Präparaten ziemlich ungleich gefunden:

	N	Angew. Subst.	gefund. N
I.	2,13	1,01	0,0216
II.	2,09	0,783	0,0164
III.	3,01	—	—
IV.	3,15	—	—
V.	3,50	0,518	0,0182

wobei die letzteren drei Präparate wasserfrei waren.

Theoretisch sollte der Stickstoffgehalt 1,87% sein.

Die letzten drei Präparate gaben schwache Millon'sche Reaktion und starke α-Naphtol-reaktion.

Jedenfalls ist demselben ein Eiweisskörper beigemengt, oder aber es handelt sich um eine Verbindung von Lecithin mit Eiweiss.

IV. Die Phosphorsäure-Bestimmung wurde ausgeführt, indem mit einem Gemisch von 3 Teilen Soda und 1 Teil Salpeter geschmolzen und verascht die Asche mit heissem Wasser und verdünnter Salpetersäure aufgenommen, und direkt mit Magnesiamixtur gefällt wurde.

Es ergaben:

		Substanzmenge	gef. P_2O_5
I.	9.58% P_2O_5	0,731	0,0701
II.	9.50	0,80	0,0767
III.	8.96	—	—
IV.	8.05	0,470	0,0378
V.	7.80	0,318	0,0245

Theoretisch 9.45% P_2O_5 im wasserfreien Lecithin.

Bei den mit Eiweiss oder Lecithalbumin stark verunreinigten Praeparaten ist also der Gehalt an Phosphorsäure zu niedrig.

V. Sämmtliche auch noch so vorsichtig ausgeführten Versuche, das Cholin quantitativ zu bestimmen, führten zu keinem brauchbaren Ergebnis.

1. Zuerst wurde die allgemein übliche Methode versucht, nämlich das Lecithin durch Kochen mit Barytwasser zu zersetzen, den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure zu fällen, das Filtrat zu verdampfen und dem Rückstand das Cholin durch absoluten Alkohol zu entziehen. Eine quantitative Bestimmung des Cholins durch Fällen mit Platinchlorid ergab aber nur 30% der berechneten Menge, abgesehen davon, dass das Platin-Cholinsalz einen zu hohen Platingehalt hatte. Somit war entweder die Zersetzung des Lecithins eine unvollkommene, oder es hatte sich auch Cholin zersetzt.
2. Es wurde auch versucht, nach Kjeldahl zu arbeiten. Kjeldahl bestimmt das Cholin durch Fällen mit Jod (als Cholinperjodid), zersetzt den abfiltrierten Niederschlag mit schwefliger Säure, fällt das Cholin nun mit Goldchlorid, zersetzt den Goldniederschlag und fällt mit Platinchlorid. Das resultierende Cholinplatinchlorid kann dann gewogen werden. —

   Aber auch diese Methode wurde verlassen, da die Fällung mit Perjodid keine vollkommene ist und sich im Filtrat Perjodidkrystalle ausscheiden.
3. Auch die Zersetzung des Lecithins mit verschieden starker Natronlauge gelang nicht. Ebensowenig führte die Zersetzung mit Säure zum Ziel.

   Trotzdem in beiden Fällen auch noch die Kochdauer variirt wurde, ergaben die Bestimmungen zu niedrigen Cholingehalt.

Um ein möglichst reines eiweissfreies Lecithin zu erhalten wurde von nun an nach folgendem Verfahren gearbeitet:

Das Rohlecithin wurde nach 2–3maligem Entwässern mit Natriumsulfat 6–8mal durch Asbest und Papier filtriert.

Da nun die ätherische Lösung noch immer nicht ganz klar war, wurde sie verdampft, und der Rückstand in Benzol aufge-

nommen. Benzol hat vor Chloroform den Vorzug, dass es besser filtriert, und die Verunreinigungen anscheinend noch weniger löst als Chloroform.

Die Benzollösung wurde nun abermals ca. 5 mal durch Asbest gesaugt, und dann noch durch Papier filtriert. So erhält man eine, wenn auch nicht spiegelblanke, so doch wenigstens kaum schwach opalisierende Lösung, die dann mit Aceton gefällt wird.

Das Produkt welches ebenso aussah wie die anderen, ergab bei der Analyse

		Theoretisch	Angew. Subst.	
N	1.99	1,84	0,872	N gef. 0,01735
P_2O_5	9.30	9.45	0,813	$Mg_2P_2O_7$ gef. 0,118 P_2O_5 gef. 0,0755]

Es dürfte also reines Dipalmitin-Cholin-lecithin sein.

Die ausserordentliche Schwierigkeit mit der sich das Eiweiss vom Lecithin trennen lässt (insbesonders die letzten Reste), sowie der Umstand, dass sich das Rohlecithin in absolutem Alkohol viel schwerer löst als in ca. 80prozentigem, machen die Anschauung Hoppe-Seylers[1]) und später Liebermanns[2]) wahrscheinlich, dass das Lecithin nicht frei, sondern in Verbindung mit einem Eiweisskomplex als Lecithalbumin vorkommt.

Analyse der Aceton-Benzolmutterlauge.

Verdampft man das Aceton-Benzolgemisch von der Acetonfällung her, so bleibt eine dunkelbräunliche, ölig-syrupöse Masse zurück, welche kaum, aber nicht unangenehm riecht und fluoresziert.

Mit Aceton fällt aus der Chloroform- oder Benzollösung nichts mehr. In Aether, Alkohol, ja sogar etwas verdünntem Alkohol ist die Masse sehr leicht löslich. Letztere Eigenschaft spricht gegen die Anwesenheit grösserer Fettmengen. Dagegen fällt die Masse mit mehr Wasser aus der alkoholischen Lösung aus.

Mit saurem schwefelsaurem Kalium bekommt man deutliche Acroleinreaktion.

[1]) Hoppe-Seyler; Physiologische Chemie.
[2]) Liebermann; Pflügers Archiv. 50 und 54.

Zuerst wurde der Aschengehalt bestimmt um zu erfahren, ob keine anderen phosphorsäurehaltigen Verbindungen anwesend seien.

Der Phosphorsäuregehalt war aber nur 0,02% (P_2O_5), infolgedessen sind keine dem Lecithin ähnliche Verbindungen vorhanden.

Der Wassergehalt war noch 5,5%. Die Säurezahl (resp. Verseifungszahl) ergab 55% freie Fettsäuren (auf Palmitinsäure berechnet) und 28% gebundene Fettsäuren.

Der Stickstoffgehalt war 1,32% wahrscheinlich grösstenteils von Cholin stammend, welches auch qualitativ nachgewiesen werden konnte.

Aus dem Rohlecithin erhielt ich wechselnde Mengen von reinem Lecithin, meist aber ca. 50%.

Da man aus der Hefetrockensubstanz auf eine Ausbeute von ca. 4% Rohlecithin rechnen darf, kann man annehmen, dass man

2% reines Lecithin

aus der Hefetrockensubstanz erhalten kann. Ausserdem enthielt sie ca. $1\frac{1}{2} - 2\%$ an Fett und Fettsäuren, welche Zahl ja auch allgemein angenommen wurde.

Verarbeitung der peptonoïden Substanz.

Die zur Lecithinbereitung mit Aether ausgeschüttelte, wässrige Lösung wurde eingedampft, wobei eine braune syrupöse Masse zurückblieb, die keinerlei Neigung zur Krystallisation zeigte.

Sie wird eventuell nochmals mit Aether extrahiert um Spuren von Lecithin zu entfernen, und sodann in Wasser aufgenommen.

Da durch das Eindampfen sich eine geringe Menge eines Körpers ausschied, musste zuerst von demselben abfiltriert werden.

Auf dem Filter blieb nun in geringer Menge ein Körper mit folgenden Eigenschaften zurück:

Unlöslich in Alkohol, fast unlöslich in heissem und kaltem Wasser.

Schwefelhaltig.

Gibt die Eiweissreaktionen.

Beim Eintrocknen auf dem Filter wird er schwarz.

Es handelt sich hier also um einen Eiweisskörper, der entweder nur im wässrigen Alkohol löslich war, oder aber der durch das Eindampfen bereits eine Veränderung erlitt.

Das Filtrat wurde bis zur Syrupdicke verdampft und zur Orientierung folgende Vorversuche angestellt.

Eigenschaften: Dicke syrupöse braune Flüssigkeit. Coaguliert beim Erhitzen nicht. Getrocknet resultiert eine spröde Masse von angenehmem bratenartigem Geruch, die sehr hygroskopisch ist. Mit Alkohol fällt eine zuerst flockige Masse, die sich absetzt und dann besonders beim Zerdrücken und Kneten mit dem Glasstabe eine charakteristische fadenziehende Konsistenz annimmt. Durch fortgesetzte Behandlung mit Alkohol wird die Masse immer spröder, zum Schluss kann man sie zerreiben und ist das resultierende Pulver seinen Eigenschaften nach so ziemlich dem Dextrin ähnlich.

Es schmeckt fleischextraktähnlich angenehm. Der Geschmack lässt auf einen hohen Salzgehalt schliessen.

Um Einblick in die Natur der Substanz zu gewinnen, wurde dieselbe analysiert und ergaben sich auf Trockensubstanz

8,5 % Stickstoff,

23 % Asche, die an der Luft zerfliesst, und

somit 11,0 % Stickstoff auf aschefreie Substanz.

Eine andere Portion ergab 20,3 % Asche.

Aus der Analyse ist nur ersichtlich, dass der Stickstoffgehalt der aschefreien Substanz unter dem der Eiweisskörper zurückbleibt

Es wurden nun folgende Reaktionen aufgestellt:

Beim Verbrennen auf dem Platinblech entwickelt die Substanz einen ganz charakteristischen Geruch, etwa nach verbrennendem Fett. In diesen Geruch mischt sich auch der brennenden Zuckers und vielleicht auch noch der von Eiweiss.

Eisenchlorid: starker Niederschlag, der sich im Ueberschuss des Fällungsmittels löst.

Quecksilberchlorid } starke Niederschläge.
Quecksilbernitrat }

Bleiacetat: voluminöser Niederschlag.

Phosphorwolframsäure und

Gerbsäure starke Niederschläge. –

Ferrocyanwasserstoffsäure, Trichloressigsäure, Pikrinsäure und Essigsäure geben keine Reaktionen.

Millons Reagens: schwache Reaktion.

Biuretreaktion: schwach roter Stich.

Dagegen gab der Körper die Molische α-Naphtolreaktion so stark, dass angenommen werden konnte, dass ein Kohlehydrat in grösserer Menge in der Substanz anwesend ist.

Es konnte nun auch mit Fehlingscher Lösung nach der Inversion eine erhebliche Menge eines Kohlehydrates nachgewiesen werden. Direkt reduzierte aber die Substanz Fehlingsche Lösung nicht. Dieser Umstand schliesst also die Anwesenheit von reducierenden Zuckerarten aus. — Ebenso erscheint die Anwesenheit von Glycogen, Dextran, Mannosan und anderen Dextrin oder gummiähnlichen Körpern ausgeschlossen, da letztere in Alkohol unlöslich sind und aus der Zelle schwer oder gar nicht diffundieren.

Bevor zur näheren Charakterisierung der Substanz geschritten wurde, sollte noch versucht werden, ascheärmere, reinere Produkte zu erhalten.

Der hohe Salzgehalt macht ja nicht nur die Analysen ungenau, sondern er vereitelt sogar manche Reaktionen.

Zu diesem Zweck wurde folgender Weg eingeschlagen. Es wurde mit wenig (etwa der Phosphorsäure entsprechenden Menge) Bleiessig gefällt. Das Filtrat wurde eingedampft und sollten die Acetate, die ja meist alkohollöslich sind, mit Alkohol entfernt werden.

Auf diese Weise gelingt es wenigstens einen geringen Anteil der Salze zu entfernen.

Der Bleiniederschlag erwies sich auch — mit Schwefelwasserstoff zersetzt — der Hauptsache nach aus Bleiphosphat bestehend, während das Filtrat ziemlich dieselben Eigenschaften hatte, wie die Ursubstanz.

Es wurde uun die Substanz immer zuerst mit etwas Bleiacetat behandelt und das eingedampfte Filtrat so lange mit Alkohol extrahiert, bis die Masse pulverig wurde.

Mit den blank filtrierten Lösungen solcher Präparate wurden dann die verschiedenen Versuche gemacht.

Die Zusammensetzung derselben war folgende

	I.	II.	III.
Asche:	22,8 %	—	23,6 %
Stickstoff in der aschefreien Subst.:	10,6 %	9,95 %	11,6 %

Die Zusammensetzung ist also nicht sehr verschieden, insbesonders wenn wir das nach der folgenden Art quantitativ bestimmte Kohlehydrat in Abzug bringen, finden wir:

Stickstoff in der asche- und kohlehydratfreien Substanz

12,6 % 12,2 % 12,8 %.

Um zu wissen, um was für eine Zuckerart es sich (in der invertierten Substanz) handelt, wurde das Osazon derselben hergestellt.

Dasselbe erwies sich, wenigstens zum Teil, als Dextrosazon. Daneben dürfte Pentosazon vorhanden gewesen sein.

Beim Kochen der Substanz mit 12 % iger Salzsäure wurde Furfurol gebildet, weshalb eine quantitative Bestimmung der Pentosane nach Tollens vorgenommen wurde.

Es ergab sich aber kaum 1 % Pentosan auf aschefreie Substanz berechnet.

Da die Mucine nach neueren Anschauungen grössere Mengen von Glucosamin oder Chitosamin enthalten, wurde nach verschiedenen Verfahren auf Glucosamin und Chitosamin geprüft.[1])

Es gelang jedoch in keinem Falle solches nachzuweisen, trotzdem die Versuche mit grosser Sorgfalt durchgeführt wurden.

Gleichwohl ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass solche Gruppen vorhanden sind. Der Nachweis derselben würde jedoch sehr grosse Substanzmengen erfordern.

Das Kohlehydrat wurde wie folgt versucht annähernd quantitativ zu bestimmen:

ca. 30 – 50 ccm der Lösung, – beiläufig 5 g Substanz enthaltend, – wurden mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt und mit 20 ccm Salzsäure vom spez. Gew. 1,125 im Inversionstopfe 3 Stunden lang invertiert.

[1]) Neuberg und Wolf, Berichte XXXIV. S. 3840.
Neuberg und Heymann, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol 1902.
Müller, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 24. 1902.
Steudel, Z. f. physiol. Chem. 34. S. 353.

Nach der Inversion wurde zur Entfernung der Stickstoffbestandteile in der sauren Lösung mit Phosphorwolframsäure gefällt, aufgefüllt, vom Filtrat ein aliquoter Teil neutralisiert, und zur Zuckerbestimmung genommen.

Es wurde wie bei einer Dextrinbestimmung verfahren, und auf Dextrin, auf aschefreie Substanz, berechnet.

Man fand hierbei immer Werte zwischen 16.6 % – 27 %.

Dieser Kohlehydratgehalt ist aber nicht hoch genug, um den Rest auf den Stiskstoffgehalt eines Eiweisskörpers zu bringen.

Fällt man die peptonoide Substanz mit Phosphorwolframsäure, erhält man einen mächtigen, voluminösen Niederschlag.

Der Niederschlag lässt sich gut filtrieren und auf folgende Weise verarbeiten:

Der noch nasse Niederschlag wird in der Hitze mit Barytwasser behandelt, bis die Reaktion alkalisch ist; dann wird erkalten gelassen, und vom phosphorwolframsauren Baryt abfiltriert.

Das Filtrat enthält aber nun etwas Baryt, und muss derselbe durch etwas Schwefelsäure quantitativ entfernt werden. Hierauf wird das Filtrat eingedampft.

Die Masse hat nun, abgesehen von ihrem höheren Aschengehalt, fast dieselben Eigenschaften, als wie die Originalsubstanz, was schon zur Anschauung Veranlassung gab, der Phosphorwolframsäure-Niederschlag wäre ein einheitlicher Körper.

Seine Zusammensetzung ist aber nicht konstant, und vor Allem ist der eine Teil des Niederschlages beim Kochen mit Wasser unlöslich, während der andere sich in heissem Wasser löst.

Der unlösliche Teil des Niederschlages ballt sich beim Kochen zusammen, und lässt sich durch Filtration leicht vom übrigen nun in Lösung befindlichen Teil trennen.

Der unlösliche Teil lässt sich nach dem Trocknen zu einem graubraunen Pulver zerreiben. Er ist in Natronlauge löslich und gibt die Biuretreaktion, deren Färbung auf die Anwesenheit eines Peptons – wahrscheinlich Leimpeptons – schliessen lässt.

Zersetzt man nun dieses Pulver in der Hitze mit Barytwasser, filtriert, und befreit vom Baryt vorsichtig, so erhält man das freie Leimpepton. Freilich liegt kein Beweis vor, dass dasselbe als solches auch schon in der peptonoïden Substanz vorhanden war,

sondern dürfte es sich vielmehr erst durch das Kochen mit den Säuren gebildet haben. Eigenschaften und Reaktionen:

Gelbliche Lösung, etwas leimig schmeckend, Geruch nach Bouillon.

Es reduziert weder direkt noch invertiert.

Eingedampft resultiert eine spröde glasige Masse, die beim Erkalten Risse bekommt und sich zu einem gelblich-weissen Pulver zerreiben lässt. Das Pulver ist nicht mehr hygroskopisch und eminent leicht löslich in Wasser.

Mit Phosphorwolframsäure fallen 76% des Gesamtstickstoffs.

Mit Gerbsäure fällt es anscheinend vollkommen aus. —

Mit Quecksilbernitrat fällt es auch in ganz verdünnter Lösung voluminös, flockig.

Millons } Reaktion auch in ganz verdünnter Lösung stark.
Biuret }

Analysen

Asche	21,9%	21,9%
Stickstoff auf aschefreie Substanz	16,3%	16,5%

Da das Pepton nur einen ganz geringen Anteil der Substanz ausmachen kann, wurde nun nach anderen stickstoffhaltigen Substanzen, in erster Linie nach Zersetzungsprodukten der Eiweisskörper gesucht. Als solche kamen in Betracht:

1. Xanthinbasen
2. Amide.

Die in dieser Richtung vorgenommenen Untersuchungen verliefen aber im Wesentlichen resultatlos, da weder Xanthinbasen (mit Silbernitrat und Ammoniak) noch Amide nachgewiesen werden konnten.

Dagegen konnten Xanthinkörper nach Krüger, insbesonders nach dem Zersetzen der Substanz durch Kochen mit 5 prozentiger Schwefelsäure, nachgewiesen werden.

Wahrscheinlich tritt eben nach Krügers Methode auch schon Zersetzung ein.

Was den wasserlöslichen Teil des Phosphorwolframsäure-Niederschlages betrifft, so ist derselbe schon äusserlich dadurch kenntlich, dass er lichter, fast weiss, pulverig ist, während der andere Teil klumpig und dunkler schmutziggrünlich war.

Aus diesem Teil erhielt ich nur ganz geringe Ausbeuten.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag wurde ebenfalls zersetzt und erhielt ich eine ganz geringe Menge einer Substanz, die in ganz feinen Naedelchen krystallisierte und sich als ein Xanthinkörper erwies.

Offenbar war auch hier durch die Einwirkung der Säuren in der Hitze bereits eine Zersetzung eingetreten.

Der Xanthinkörper konnte nur Hypoxanthin oder Adenin sein, da er die Murexidreaktion nicht, wohl aber alle anderen für die beiden Xanthinkörper charakteristischen Reaktionen gab:

Mit Silbernitrat in Ammoniak unlöslicher Niederschlag.

Mit Pikrinsäure in Ammoniak unlöslicher Niederschlag.

Mit Zink und Salzsäure gekocht, wurde die Lösung nach Zusatz von Alkali rot.

Dieser Befund stimmt auch mit dem von Kossel gefundenen überein. Derselbe fand auch als Spaltungsprodukte der Hefenucleinsäure

Hypoxanthin und Adenin.

Das Auftreten der Xanthinkörper macht es wahrscheinlich, dass im alkoholischen Hefeextrakte auch ein nucleinbasenhaltiger Eiweisskörper in geringer Menge vorhanden ist.

Ausser diesen Naedelchen von Xanthinkörpern war im zersetzten Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag noch eine Substanz in grösserer Menge vorhanden, die alle Eigenschaften der Originalsubstanz hatte. Vermutlich dürfte es sich hier also der Hauptsache nach um Glycoproteide handeln, und zwar um ähnliche wie das Pseudomucin (Hammarsten), Paralbumin oder Metalbumin und können die charakteristischen Eigenschaften und die verhältnismässig konstante Zusammensetzung wohl zur Anschauung Veranlassung geben, dass es sich um derartige Verbindungen handle, umsomehr, als ähnliche Verbindungen auch in anderen niederen und höheren Pilzen gefunden wurden. — Diese Ansicht fand später eine Bekräftigung dadurch, dass ich auch auf verschiedenen anderen Wegen, so auch aus den sogenannten Hefefleischextrakten, Substanzen gewinnen konnte, die dieselben Eigenschaften und Zusammensetzung hatten, als die eben beschriebene.

Extraktion der Hefe mit Ammoncarbonatlösung.

Durch die Extraktion der Hefe mit Ammoncarbonatlösung nach einem von Professor Lintner angegebenen Verfahren bezweckte man, auf einem anderen Wege als durch Alkoholextraktion, zur Gewinnung der peptonoïden Substanz zu gelangen. Bei diesem Verfahren wurde die Extraktion des die Filtration so erschwerenden Lecithins vermieden.

Dasselbe besteht darin, dass man Hefe etwa mit 5 – 10% Ammoncarbonat stehen lässt, wobei sie ziemlich flüssig wird und ihre Eiweissstoffe zum grössten Teil abgibt. Aehnliche Wirkungen wie das Ammoncarbonat üben auch andere Salze aus, jedoch hat das Ammoncarbonat vor allen anderen Salzen den Vorzug, dass es sich vollkommen wegkochen lässt.

Es wurde gereinigte Hefe mit 10% Ammoncarbonat gut vermischt 24 Stunden stehen gelassen, dann mit viel Wasser übergossen und nach einiger Zeit filtriert.

Man erhält ein schwach gelb gefärbtes Filtrat, welches man so lange aufs Filter zurückgibt, bis es klar abläuft. Nun erwärmt man das ganze Filtrat am Wasserbade.

Schon bei 50° C beginnt die Eiweissausscheidung und wird dieselbe bei 65° scheinbar vollständig. Man kocht dann noch auf, filtriert, wäscht mit heissem Wasser nach, bringt zum Schluss das auf dem Filter Befindliche in eine Schale mit Wasser, in der man es noch gut knetet und wäscht, um es zum Schluss wieder zu filtrieren. – Man wäscht dann noch mit Alkohol und Aether, oder trocknet die Substanz in dünner Schichte ausgebreitet bei einer Temperatur von 50° C.

Man erhält auf diese Weise ein Produkt, welches nach allen Eigenschaften und Reaktionen als ein Albumin angesprochen werden kann.

Ich fand darin

15,65% Stickstoff.

Schröter (l. c.) fand im Hefealbumin, welches er nach dem Verfahren von Buchner, durch Einwirkung von Aether auf Hefe erhielt, einen Stickstoffgehalt von 15,78%. — Auch kochte Schröter dieses Eiweiss mit konzentrierter Salzsäure, und fand bei der hierbei verlaufenden Spaltung: Aminosäuren, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Basen, letztere in ziemlich erheblicher Menge. —

Vom Gesamtstickstoff des Ammoncarbonatextractes waren ca. 50% coagulierbar.

Im Filtrat konnten Niederschläge mit Zinksulfat, Phosphorwolframsäure etc. erzielt werden.

Mit Zinksulfat fielen z. B. 11% des Gesamtstickstoffs, wahrscheinlich Albumosen.

Wurde nun das Filtrat vom Coagulum bis zur Syrupconsistenz eingedampft, so konnte aus demselben mit Alkohol ein Körper gefällt werden, welcher allem Anschein nach identisch ist, mit der aus dem alkoholischen Extrakt gewonnenen peptonoïden Substanz.

Vor allem zeigte er dieselbe charakteristische fadenziehende Beschaffenheit, als wie der andere.

Beim längeren Behandeln mit Alkohol wurde er auch pulverig, und gab dann, in Wasser aufgenommen und filtriert — (geringer Rückstand) — folgende Analysenresultate:

N	7,5	7,4
Asche	20,9	21,5
N auf aschefreie Substanz	9,4	9,4.

Ebenso konnte nach derselben Methode wie schon früher ein Kohlehydrat von etwa

21%

nachgewiesen werden.

Die Aehnlichkeit dieser Zusammensetzung mit dem nach der ganz anderen Methode gewonnenen Körper macht es wahrscheinlich, dass der hohe Aschengehalt, sowie der Kohlehydratgehalt, wenigstens teilweise, nicht als zufällige Gemenge, sondern als Bestandteile einer Verbindung anzusprechen sind.

Um dies zu entscheiden, wurden verschiedene Versuche angestellt:

1. Es wurde mit einem grossen Ueberschuss von Bleiacetat gefällt, in ziemlich konzentrierter Lösung der Substanz. Es fällt hiebei ein voluminöser flockiger Niederschlag, welcher abfiltriert, und gut ausgewaschen wurde.

   Nun wurde er in Wasser aufgeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt.

   Nach dem Abfiltrieren vom Schwefelblei wurde der Schwefelwasserstoff verjagt, und zeigte die Substanz nun folgende Zusammensetzung:

Stickstoff auf aschefreie Substanz	8,25 %
Kohlehydrat	21,5 %.

   Die Anwesenheit des Kohlehydrates in dem Bleiniederschlag macht es wahrscheinlich, dass dasselbe nicht frei, sondern an die Stickstoffsubstanz gebunden vorkommt, da durch neutrales Bleiacetat Kohlehydrate zumeist nicht gefällt werden.

   Bemerkt sei hier auch, dass die quantitative Bestimmung des Kohlehydrates — sobald wir eine Verbindung annehmen — nur eine annähernde sein kann. Denn einesteils wird die zur Inversion verwendete schwache Säure nicht im Stande sein, alles Kohlehydrat abzuspalten, andererseits kann bei Verwendung stärkerer Säure eine abgespaltene leicht zersetzliche Zuckerart ihr Reduktionsvermögen bereits verlieren.

   Der Rückstand des Filtrats vom Bleiniederschlag war sehr wenig. Es hatte auch einen zu hohen Aschengehalt, um damit eine exakte Analyse auszuführen.

   Es schien fast, als ob die Substanz mit Bleiacetat nahezu quantitativ ausgefallen wäre.

2. Es wurde nun auch versucht, dieselbe Substanz aus den im Handel befindlichen Hefeextrakten zu gewinnen:

   Zu diesem Zwecke wurde ein solcher in wenig Wasser aufgenommen - die meisten lösen sich nicht klar — und

mit Alkohol gefällt. Es bildet sich der bekannte milchige, dann flockige und zum Schluss fadenziehende Niederschlag.

Derselbe wird nun in wenig Wasser aufgenommen und so lang filtriert bis er ganz klar wird.

Die Analyse verschiedener Präparate ergab:

	I	II	III
N	7,9	8,1	7,78
Asche	24,0	26,0	22,6
N auf aschefreie Substanz	10,2	10,95	10,0
Kohlehydrat auf aschefr. Subst.	13,0	—	14,2

Dass also in diesen Extrakten auch Substanzen von annähernd derselben Zusammensetzung vorkommen, dürfte gleichfalls ein Beweis sein, dass es sich um eine pseudomucinähnliche Verbindung handelt.

Bemerkt sei noch, dass Reinke und Rodewald[1]) im Protoplasma von Aethalium septicum auch eine Substanz fanden, die ihren Eigenschaften nach dieselbe sein dürfte als die von mir in der Hefe gefundene.

Auch E. Winterstein und J. Hoffmann[2]) fanden bei ihren Versuchen, die die Trennung der stickstoffhaltigen Substanzen einiger Pilze bezweckten, einen stark kohlehydrathaltigen Körper, der die Untersuchung sehr erschwerte. —

Was die Ausbeuten an dieser peptonoiden Substanz aus der Hefe betraf, so fand ich, dass bei der Extraktion mit 80%igem Alkohol 18 22% der Hefetrockensubstanz extrahiert werden konnten. (Nach Naegeli und Löw 16 – 17%). Und zwar wären davon 15 – 18% auf die peptonoide Substanz zu rechnen.

Mit Ammoncarbonat waren die Gesammt-Ausbeuten natürlich bedeutend höher, aber auch an peptonoider Substanz erhielt ich einmal ca. 20% auf Hefetrockensubstanz.

In den Hefeextrakten des Handels bildet sie jedenfalls den Hauptbestandteil.

---

[1]) Reincke und Rodewald, Studien über das Protoplasma. I. Teil, Berlin 1881.

[2]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1902.

Die Hauptergebnisse dieser Arbeit sind demnach folgende:

1. Die Methode von Naegeli und Löw, den Fettgehalt der Hefe zu bestimmen, lieferte zu hohe Zahlen, da hierbei Lecithin zersetzt und dessen Fettsäuren mitbestimmt wurden. — Der Fettgehalt der Hefe beträgt wohl nicht mehr als $1^1/_2 - 2\%$ auf Hefetrockensubstanz.
2. Die Hefe enthält $1^1/_2 - 2\%$ eines Dipalmitinlecithins, wahrscheinlich in gebundenem Zustande.
3. Die Hefe enthält etwa 20% eines noch nicht näher bekannten Körpers von ähnlicher Zusammensetzung, als die eines Pseudomucins.

   Derselbe bildet auch den Hauptbestandteil der sog. Hefefleischextrakte